

Aus der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und
Röntgendiagnostik (Direktor: Prof. Dr. F. Heß)
im Radiologiezentrum
(Direktoren: Prof. Dr. Dr. E. H. Graul und Prof. Dr. F. Heß)
der Philipps-Universität Marburg

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON
LOKALER RÖNTGENBESTRAHLUNG AUF
INTRAZELLULÄRE KALIUM- UND NATRIUM-
KONZENTRATION, WASSERGEHALT UND
EXTRA ZELLULÄRRAUM
AM ISOLIERTEN MEERSCHWEINCHENVORHOF

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von —

ULRICH MÜLLER

aus Olpe

Marburg 1975

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und
Röntgendiagnostik (Direktor: Prof. Dr. F. Heß)
im Radiologiezentrum
(Direktoren: Prof. Dr. Dr. E. H. Graul und Prof. Dr. F. Heß)
der Philipps-Universität Marburg

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON
LOKALER RÖNTGENBESTRAHLUNG AUF
INTRAZELLULÄRE KALIUM- UND NATRIUM-
KONZENTRATION, WASSERGEHALT UND
EXTRAZELLULÄRRaum
AM ISOLIERTEN MEERSCHWEINCHENVORHOF

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von

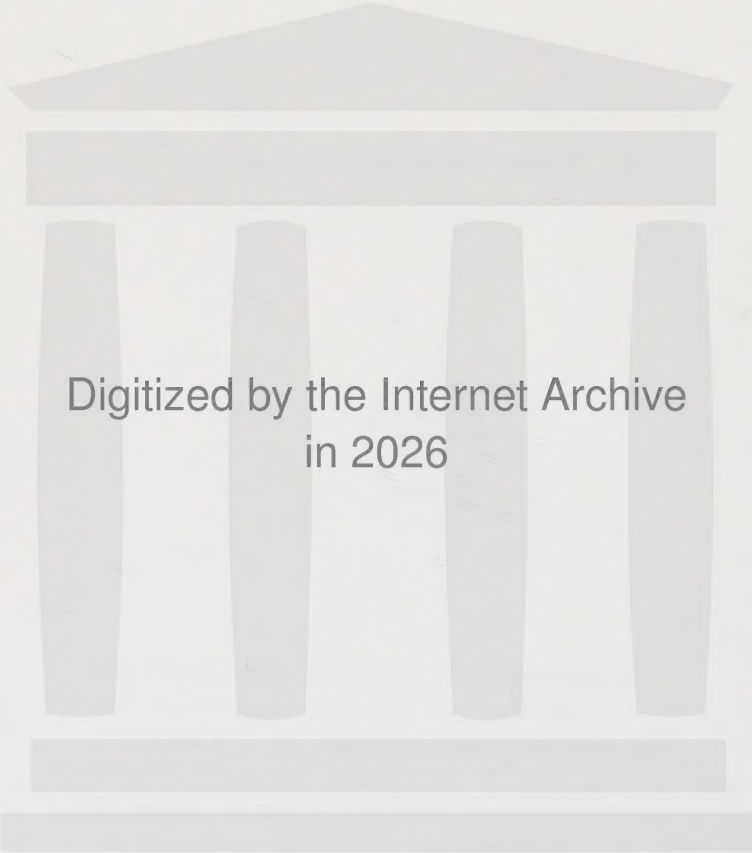
ULRICH MÜLLER
aus Olpe

Marburg 1975



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 1..Juli.1975
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. Oepen
Referent: Prof. Dr. Heß
Correferent: Prof. Dr. Schaumlöffel

Meiner tapferen, kleinen Frau



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552302_0045

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	Seite 1
Methode	Seite 5
Ergebnisse	Seite 14
Abbildungen	Seite 21
Tabellen	Seite 28
Diskussion	Seite 31
Zusammenfassung	Seite 39
Literatur	Seite 40

E i n l e i t u n g =====

Mögliche Einflüsse ionisierender Strahlung auf die intrazellulären Kalium- und Natriumkonzentrationen sind besonders aus zwei Gründen von Bedeutung:

Einerseits wird das Ruhepotential einer Zellmembran im wesentlichen durch das Verhältnis von intrazellulärer zu extrazellulärer Kaliumkonzentration bestimmt; daher werden die elementarsten Erregungsabläufe des lebenden Organismus von dieser Ionenverteilung beeinflusst (BERGEDER 1961).

Andererseits sind die intrazellulären Konzentrationen von Kalium und Natrium auch von großer Bedeutung für enzymatisch gesteuerte chemische Prozesse, da erhöhte oder verminderte Konzentrationen dieser Ionen solche Reaktionen entweder hemmen oder aktivieren können. Es ist denkbar, daß diese Reaktionen wieder auf Transportmechanismen der genannten Kationen an der Zellmembran Einfluß nehmen (RINK und BERGEDER 1968). Folglich ist eine primäre Störung der Kationenverteilung mit Einfluß auf chemische Transportprozesse oft schlecht zu unterscheiden von einer primären Störung der Transportprozesse, die sich auf die Ionenverteilung sekundär auswirkt.

Die Versuche werden am Herzvorhofpräparat des Meerschweinchens durchgeführt. Bekanntlich zählt der Herzmuskel zu den im allgemeinen "strahlenresistent" genannten Geweben. Auch der glatte und quergestreifte Muskel, das Gehirn und das Knochengewebe gehören in diese Gruppe. Leber-, Lungen- und Drüsengewebe nehmen eine mittlere Stellung ein, während die Darmschleimhaut, die Blutzellen und blutbildendes Gewebe, die Milz und das lymphatische Gewebe sowie das Keimepithel als äußerst strahlensensibel

gelten. Allgemein und vergrößernd kann man davon sprechen, daß Gewebe mit hoher Zellteilungsrate strahlenempfindlicher, solche mit niedriger unempfindlicher sind; auf ähnlicher Basis geht man davon aus, daß stark differenzierte Zellen weniger empfindlich gegenüber Bestrahlung sind als Zellen, die auf einer primitiveren Stufe der Differenzierung stehen (HAMPERL 1968).

Wohl auf Grund der Tatsache, daß der Herzmuskel als relativ strahlenresistent gilt, werden in einigen Arbeiten hohe bis sehr hohe Strahlendosen bei lokaler oder isolierter Organbestrahlung gewählt, um einen Effekt zu erzielen (BERGEDER 1958, 1961 und 1961; WILDE and SHEPPARD 1954-55). Es fragt sich jedoch, ob es angesichts massiver Eiweißdenaturation bei solchen Bestrahlungsdosen noch sinnvoll ist, in diesen Fällen Kationenverteilungsstudien anzustellen.

Andere Autoren wählen den Weg der Ganzkörperbestrahlung, wobei die Dosis im Bereich von ca. 0,5 bis 10 kR liegt (BOWERS and SCOTT 1951; BREUER, PARCHWITZ und WINKLER 1958; HOCHREIN, BRAUN, REINERT und KRIEGSMANN 1963).

In diesen Fällen ist jedoch der Einfluß anderer durch die Bestrahlung ausgelöster Prozesse auf die Herzmuskulatur eine oft schwer wägbare Größe. Eine Schädigung der strahlensensiblen Organe kann zu einer Änderung der Ionenkonzentrationen im Extrazellulärraum führen, die wieder Einfluß nimmt auf die Konzentrationen im zu untersuchenden Gewebe. Humorale Reaktionen des Organismus können die Elektrolytlage wesentlich beeinflussen. Änderung der Ausscheidung, Durchfälle nehmen Einfluß auf den Wassergehalt der Gewebe und damit auf die Elektrolytkonzentrationen (WILDE and SHEPPART 1954-55).

Als Ausweg bietet sich die Bestrahlung isolierter Gewebestücke an, die bei möglichst physiologischen Bedingungen gehalten werden. Vorversuche haben ergeben, daß unter den in dieser Arbeit gewählten Bedingungen der Gesamtkalium- und Gesamtnatriumgehalt des isolierten Vorhofs tatsächlich über mehr als drei Stunden konstant gehalten werden kann. Die Untersuchung der fraglichen Größen kann also ohne Beeinflussung durch andere Parameter geschehen. Erfasst werden die nur in diesem Gewebe vorgehenden und von diesem Gewebe ausgehenden Abläufe, d. h. die Vorgänge an der Membran der Herzmuskelzelle als Folge der Bestrahlung.

Die direkte Messung intrazellulärer Ionenkonzentrationen ist nicht möglich. Eine Ermittlung kann nur über die Messung der Gesamtkonzentration der einzelnen Ionen mittels Flammenphotometer und die Berechnung der intrazellulären Konzentrationen mit Hilfe des ebenfalls gemessenen Extrazellulär-raumes (ECR) und des Gesamtwassergehaltes (WG_{ges}) erfolgen. Die Angabe nur der Gesamtkonzentration ist problematisch, weil die Verteilung der Ionen auf ECR und intrazellulären Raum dann nicht überblickt werden kann. Ein steigender Wert für die Gesamtkaliumkonzentration kann zum Beispiel auf eine tatsächliche Kaliumkonzentrationssteigerung in der Zelle, aber auch auf eine Verringerung des ECR zurückgehen. Die gleichzeitige ECR-Bestimmung scheint daher unerläßlich.

Scheinbar als einfachste Lösung bietet sich die Bestimmung des ECR-Durchschnitts eines Kollektivs von Vorhöfen an. Dieser Wert könnte dann bei jeder Berechnung verwendet werden. Ein solches Vorgehen würde zwei Tatsachen außer Betracht lassen. Es ist durchaus möglich, daß die ECR-Werte der Gewebestücke in weiten Grenzen schwanken. Durch Annahme eines mittleren ECR-Wertes für alle Vorhöfe und

Verwendung dieses Wertes in der Berechnung würde die Streuung der intrazellulären Konzentrationen erheblich vergrößert. Es ist ebenfalls möglich, daß der ECR durch die Bestrahlung verändert wird. Dadurch würden dann ganz erhebliche Fehler bei der Berechnung der intrazellulären Konzentrationen auf der Grundlage des unveränderten ECR entstehen.

Erforderlich ist also eine Methode, die die Messung sowohl des ECR als auch der Kationenkonzentration am gleichen Präparat ermöglicht. Im ersten Teil (I.) der vorliegenden Arbeit wird deshalb zunächst über eine neue Methode zur ECR-Bestimmung berichtet. Im zweiten Teil (II.) sollen dann unter Verwendung dieser Methode die Veränderungen der intrazellulären Werte für die Kalium- und Natrium-Konzentration, des ECR und des Wassergehaltes in Abhängigkeit von verschiedenen mäßig hohen Strahlendosen im Bereich von 3 bis 20 kR zwei Stunden nach der Bestrahlung ermittelt werden.

M e t h o d e

=====

I.

- 1) Linke Herzvorhöfe von Meerschweinchen werden bei 35°C 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180 und 300 Minuten in ⁵¹Cr-EDTA-haltiger Tyrode inkubiert. Dadurch soll der ECR der Gewebsstücke sowie die optimale Inkubationszeit für die ECR-Bestimmung solcher Gewebsstücke ermittelt werden.
- 2) Mit Hilfe der so gefundenen optimalen Inkubationszeit wird auch der ECR rechter Herzvorhöfe von Meerschweinchen bei 35°C bestimmt.
- 3) Weiter soll die Größe des ECR von linken Herzvorhöfen bei verschiedenen Inkubationstemperaturen (10°C, 20°C, 30°C, 35°C) ermittelt werden.
- 4) Schließlich werden die Auswirkungen verschieden langer Anoxie auf den ECR linker Herzvorhöfe dargestellt. Auch hierbei ist die Inkubationszeit in ⁵¹Cr-EDTA-haltiger Tyrode jeweils gleich der oben ermittelten optimalen Inkubationszeit und die Temperatur 35°C.

Materialgewinnung

Die Versuche werden an isolierten linken und rechten Herzvorhöfen von 250 bis 350 g schweren, weiblichen Meerschweinchen durchgeführt. Die Tiere werden durch Genickschlag getötet und aus den Carotiden entblutet, die Herzen aus dem Thorax excidiert und von Bindegewebe und Gefäßen befreit. Die ruhenden linken und zum Teil auch die spontan schlagenden rechten Herzvorhöfe werden abgetrennt und zu Kollektiven von bis zu 20 linken und rechten Vorhöfen in einer Tyrodelösung, die mit Carbogen (95% O₂, 5 % CO₂) gesättigt ist, gesammelt. Der gesamte Präparationsvorgang dauert für jedes Tier weniger als eine Minute.

Inkubation

Die gesammelten Vorhöfe werden in einer ^{51}Cr -EDTA-haltigen Tyrode verschieden lange Zeiten inkubiert. Die Tyrode ist carbogendurchperlt, die Temperatur wird mit einem Umlaufthermostaten auf 35°C konstant gehalten. Nur bei den Versuchen über den Einfluß der Temperatur auf den ECR betragen die Inkubationstemperaturen 10°C , 20°C oder 30°C bei zwei Stunden Inkubationszeit. Für den Versuch mit zweistündiger Anoxie werden die Herzvorhöfe zwei Stunden in ^{51}Cr -EDTA-haltiger (aktiver) Tyrode jedoch ohne Carbogen inkubiert. Bei dreistündiger bzw. fünfstündiger Anoxie geht diesen zwei Stunden noch eine bzw. drei Stunden Inkubation in inaktiver, sonst gleicher Tyrode voraus. Auch bei den Anoxieversuchen beträgt die Temperatur 35°C .

Tyrode

Die Tyrodelösung hat folgende Zusammensetzung:

Na^{+} :	149,62 mVal/l	Cl^{-} :	147,96 mVal/l
K^{+} :	5,37 mVal/l	HCO_3^{-} :	11,90 mVal/l
Ca^{++} :	3,60 mVal/l	HPO_4^{--} :	0,83 mVal/l
Mg^{++} :	2,10 mVal/l		

Glucose: 5,55 mMol/l

^{51}Cr -EDTA

EDTA (= Äthylen-diamin-tetraacetat) ist eine organische Verbindung mit Neigung zur Bildung von Komplexsalzen. Besonders stabil sind dabei die Komplexe mit Schwermetallen wie zum Beispiel mit Chrom. In der verwendeten Verbindung liegt das Chrom in Form des Radioisotops ^{51}Cr vor. Dieses zerfällt durch Einfang von Elektronen aus der K-Schale, die durch Elektronen der äußeren Schalen aufgefüllt wird, wobei unter anderem Röntgenstrahlen mit einer Energie von 320 KeV auf-

treten. Die Halbwertszeit von ^{51}Cr beträgt 27,8 Tage. Der gesamte ^{51}Cr -EDTA-Komplex hat ein Molekulargewicht von 343. Wir beziehen ^{51}Cr -EDTA in physiologischer Kochsalzlösung steril und pyrogenfrei von der Fa. Hoechst. Die spezifische Aktivität ist 40 mCi ^{51}Cr pro mg Chrom. Im Versuch verwenden wir ca. 400 uCi/100 ml Tyrode.

Verarbeitung und Feuchtgewichtsbestimmung

Am Ende der verschiedenen Inkubationszeiten werden die Gewebsstücke der Tyrodelösung vorsichtig entnommen und zwischen Blauband-Filterpapier 90 Sekunden lang unter einer Belastung von 250 g abgepreßt. Sie werden in Duran-Gläser, deren Gewicht vorher ermittelt worden ist, überführt. Die Gläser werden dann ein zweites Mal gewogen; aus der Differenz der Gewichte ergeben sich die Feuchtgewichte der Herzvorhöfe. Es ist darauf zu achten, daß beide Wägungen bei gleicher Temperatur stattfinden, da nur so die am Glase sich befindende mitgewogene Feuchtigkeitsmenge konstant bleibt. Das Feuchtgewicht der linken Vorhöfe beträgt so ermittelt $35,40 \pm 0,51$ mg ($n = 262$), das der rechten Vorhöfe $21,95 \pm 1,05$ mg ($n = 27$).

Aktivitätsmessung und Berechnung des ECR

Nach der genannten Inkubationszeit werden aus der aktiven Tyrodelösung mehrere Proben zu 0,1 ml entnommen und ebenfalls in Duran-Gläser gegeben. Im Bohrloch wird nun die Aktivität der Herzvorhöfe und der Tyrodeproben eine Minute lang gemessen. Von der gemessenen Aktivität ist der für jedes Glas vorher bestimmte Nullwert der Aktivität zu subtrahieren. Die Größe des Extrazellulärtraumes berechnet sich nach folgenden Formeln:

$$\text{ECR } [\mu\text{l}] = \frac{\text{Impulse/min des Gewebsstücks} \times 100}{\text{Impulse/min der 0,1 ml-Probe}}$$

$$\text{ECR } [\% \text{FG}] = \frac{\text{ECR } [\mu\text{l}] \times 100}{\text{Feuchtgewicht } [\text{mg}]}$$

Bei den Angaben des ECR in %FG (Feuchtgewicht) vernachlässigt man den Fehler, der durch das Gleichsetzen von 1 mg Feuchtgewicht und 1 μl entsteht. Die Angabe in %FG ist jedoch allgemein üblich und der entsprechende Fehler klein. Die genaue Einheitsbezeichnung der Größe des ECR müßte $\mu\text{l}/100 \text{ mg}$ Feuchtgewicht lauten.

II.

Unter Anwendung der oben methodisch beschriebenen ECR-Bestimmung sollen nun die Auswirkungen ionisierender Strahlen auf den ECR, den Wassergehalt und den intrazellulären K^+ - und Na^+ -Gehalt am Beispiel des isolierten Herzvorhofs des Meerschweinchens untersucht werden. Linke und rechte Herzvorhöfe werden dabei getrennt betrachtet. Materialgewinnung, Inkubation, die Zusammensetzung der Tyrodelösung, Feuchtgewichtsbestimmung, Aktivitätsmessung und Berechnung des ECR sind bereits oben beschrieben und kommen hier in gleicher Weise zur Anwendung.

Bestrahlung

Die Bestrahlung erfolgt am Müller RT 100 (55 kV, 10 mA, 0,75 Al, Abstand 10 cm). Die Oberflächendosis 3, 6, 10 und 20 kR entspricht praktisch der Herddosis, da die Dicke der Herzvorhöfe maximal 1,5 mm beträgt. Nach der Materialgewinnung und vor der Inkubation zur ECR-Bestimmung wird die Bestrahlung in den vorher beschriebenen Ablauf eingeschaltet. Dabei befinden sich die Vorhöfe immer in der schon beschriebenen Tyrodelösung, die auch während der Bestrahlung von

Carbogen durchperlt wird. Die Bestimmung der zu messenden Größen findet dann praktisch zwei Stunden nach der Bestrahlung statt, da nach der Inkubation vom Augenblick des Abpressens an alle zu messenden Größen, Aktivität, Kationen-gehalt und Wassergehalt, unverändert bleiben.

Ermittlung des Wassergehaltes

Nach der Feuchtgewichtsbestimmung und der Aktivitätsmessung befinden sich die Gewebstückchen noch in den oben erwähnten Duran-Gläsern. Darin bleiben sie und werden nun im Trockenschrank bei 105°C drei Stunden lang getrocknet. Das Beispiel der Abbildung 1 zeigt, daß nach drei Stunden das Gewicht der getrockneten Vorhöfe nicht weiter abnimmt, bzw. daß kein Wasser nach dieser Zeit mehr abgegeben wird. Freilich muß man sich bei dieser Methode der Trockengewichtsbestimmung darüber im klaren sein, daß auch andere flüchtige Stoffe außer H₂O aus dem Gewebe entweichen; doch ist ihr Anteil so gering, daß man ihn bei einer Meßgenauigkeit von 0,1 mg (Feuchtgewichte der Vorhöfe: 10 bis 50 mg) vernachlässigen kann. Zudem sind andere Wassergehaltsbestimmungen bei weitem aufwendiger und würden die anderen Messungen stören.

Die Gewichts-differenz aus der Wägung vor der Trocknung und einer Wägung nach einer dreistündigen Trocknung ist also nahezu gleich dem Gewicht der enthaltenen Wassermenge. Bezieht man diese Wassermenge auf das Feuchtgewicht, so kann der Wassergehalt in %FG (ml/100 mg Feuchtgewicht) angegeben werden. Der prozentuale Anteil des Wassers am intrazellulären Raum läßt sich jetzt aus dieser Größe und dem ECR ermitteln:

$$WG_{\text{intrazell}} [\%] = \frac{WG_{\text{ges}} [\%FG] - ECR [\%FG]}{100 - ECR [\%FG]}$$

$WG_{\text{intrazell}}$ ist dabei die zu berechnende Größe des Wasseranteils in der Zelle (Zellwasser), WG_{ges} ist der gesamte oben ermittelte Wassergehalt. Außerdem geht man natürlich davon aus, daß der ECR zu 100 % mit Wasser gefüllt ist (Bindegewebssubstanzen werden in dieser Arbeit zum Intrazellulärraum gezählt.).

Veraschung

Eine Veraschung verfolgt den Zweck, alle organischen Bestandteile der Vorhöfe zu verflüchtigen und nur die anorganischen zurückzuhalten, speziell die hier zu bestimmen den Kationen K^+ und Na^+ . Dazu werden in jedes Duran-Glas zu dem Gewebsstück 0,1 ml ca. 30 %ige Perchlorsäure und 0,1 ml konzentrierte Salpetersäure gegeben. Das Ganze wird unter dem Abzug bei einer langsam bis auf ca. $250^{\circ}C$ steigenden Temperatur drei Stunden lang erhitzt, bis alle nicht mineralischen Stoffe verschwunden sind.

Verdünnung der anorganischen Bestandteile und Eichung des Flammenphotometers

Nach Abkühlung der Gläser werden 5 ml aqua bidest. und 2 ml 0,1-n HCl zugefügt. Unter Berücksichtigung des ursprünglich vorhandenen Feuchtgewichts der Vorhöfe wird nun der auf diese Weise hergestellte Verdünnungsgrad der Lösungen berechnet. Beispiele:

- | | | |
|------------------|---------|------------------|
| 1) Feuchtgewicht | war | 35 mg |
| Volumen | jetzt | 7 ml (= 7000 mg) |
| Verdünnung: | 35:7000 | = 1:200 |
| 2) Feuchtgewicht | war | 20 mg |
| Volumen | jetzt | 7 ml (= 7000 mg) |
| Verdünnung: | 20:7000 | = 1:350 |
| 3) Feuchtgewicht | war | 50 mg |
| Volumen | jetzt | 7 ml (= 7000 mg) |
| Verdünnung: | 50:7000 | = 1:140 |

Zur Eichung des Flammenphotometers wird eine Stammlösung in Anlehnung an STAIB und JUDT (1968) hergestellt. Ihre Ionenkonzentrationen sind:

Na^+ : 87,00 mVal/l	Cl^- : 108,16 mVal/l
K^+ : 51,16 mVal/l	SO_4^{--} : 84,18 mVal/l
Mg^{++} : 84,18 mVal/l	CO_3^{--} : 31,74 mVal/l
Ca^{++} : 31,74 mVal/l	HPO_4^{--} : 30,30 mVal/l
NH_4^+ : 30,30 mVal/l	

Eine Verdünnung 1:200 dieser Stammlösung (verdünnt mit aqua bidest. und 0,1-n HCl im Verhältnis 5:2) wird als Eichlösung verwendet, denn es kann festgestellt werden, daß die Eichkurve des Flammenphotometers im Meßbereich Linearität aufweist und daher jeweils nur ein Eichpunkt für die K^+ - und Na^+ -Messung genügt.

Messung am Flammenphotometer "Eppendorf"

Die Messung der Kationenkonzentrationen wird aus den gut geschüttelten Duran-Gläsern vorgenommen. Nach jeweils drei bis vier Messungen muß man den Eichpunkt mit Hilfe der Eichlösung nachstellen. Leerwerte laufen bei allen Messungen mit, das sind leere Gläser, die von der Veraschung an genau wie die anderen Gläser mit Inhalt behandelt werden. Der Mittelwert ihrer Meßgrößen wird als Leerwert von allen Messungen der jeweiligen Serie subtrahiert. Die Berechnung des Gesamt-Natrium- bzw. Gesamt-Kalium-Gehaltes (bezogen auf 1 kg Feuchtgewicht) muß die unterschiedlichen Verdünnungen berücksichtigen. Da die Verdünnung des Eichwertes 1:200 ist, stimmt nur bei dieser Verdünnung, also bei einem Feuchtgewicht des Vorhofs von 35 mg, der abgelesene Wert mit der tatsächlichen Gesamtkonzentration überein. Ist die Verdünnung der zu messenden Größe jedoch wie beim oben erwähnten Beispiel 2) 1:350, so muß der abgelesene (um den Leerwert verringerte) Meßwert noch mit $\frac{35}{20}$ multipliziert werden, damit man die Gesamtkonzentration an Na^+ und K^+ erhält. Beim Beispiel 3)

ist der Faktor $\frac{35}{50}$. So ergibt sich bei diesem Verfahren und den obigen Verdünnungen die allgemeine Formel:

Gesamtkonzentration [mVal/kg FG] =

$$\frac{(\text{Konzentration}_{\text{gemessen}} - \text{Leerwert}) \times 35}{\text{Feuchtgewicht} \text{ [mg]}}$$

Am Flammenphotometer "Eppendorf" (Fa. Netheler und Hinz, Hamburg) sind bei den Messungen folgende Einstellungen zu beachten: Luftdruck 0,5 atü, Meßbereich 100, Gasdruck 200 mWS; als Brenngas wird Propan verwandt (Temperatur der Flamme: 1.900°C). Bei der Natriummessung wird der Filter 589 mu, bei der Kaliummessung der Filter 766 mu und 769 mu vorgeschaltet.

Berechnung der intrazellulären Ionenkonzentration

Aus den jetzt vorliegenden Werten des Gesamtnatrium- bzw. Gesamtkaliumgehaltes in mVal bezogen auf den kg Feuchtgewicht und den schon vorher bestimmten Größen des ECR und des Gesamtwassergehaltes läßt sich nun die Kationenkonzentration im Zellinnern sowohl auf das Faserwasser (FW) bezogen (als C_{FW} [mVal/l FW]) als auch auf die Trockensubstanz bezogen (als C_{TG} [mVal/kg Trockengewicht]) berechnen:

$$C_{\text{FW}} = \frac{C_{\text{ges}} - C_{\text{ex}} \times \text{ECR}}{WG_{\text{ges}} - \text{ECR}}$$

$$C_{\text{TG}} = \frac{C_{\text{ges}} - C_{\text{ex}} \times \text{ECR}}{1 - WG_{\text{ges}}}$$

Die extrazelluläre Kationenkonzentration ist die der Tyrodelösung C_{ex} [mVal/l]; der ECR ist in diesen Formeln in ml/g Feuchtgewicht angegeben, ebenso der Gesamtwassergehalt WG_{ges} . C_{ges} ist die ermittelte Gesamtkationenkonzentration der Gewebsstücke in mVal/kg Feuchtgewicht.

Statistische Auswertung

Die Angaben in Text und Abbildungen erfolgen als Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwerts ($\bar{x} \pm s\bar{x}$). Die Anzahl der Einzelwerte wird mit n bezeichnet, die Einzelwerte mit x . Dann ist der Mittelwert:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Der mittlere Fehler der Einzelwerte (Standardabweichung):

$$sx = \frac{\sum (\bar{x} - x)^2}{n - 1}$$

Der mittlere Fehler des Mittelwertes (Standardabweichung des Mittelwerts):

$$s\bar{x} = \frac{\sum (\bar{x} - x)^2}{n(n - 1)}$$

Zum Vergleich zweier Mittelwerte wird der Student-Test durchgeführt; aus den beiden Mittelwerten, den beiden Standardabweichungen und der jeweiligen Zahl der Freiheitsgrade ($n - 1$) wird der t -Wert ermittelt. Jedem t -Wert ist bei gegebener Summe der Freiheitsgrade ein p -Wert zugeordnet. Liegt dieser unter 0,05, nehmen wir einen signifikanten Unterschied der beiden verglichenen Kollektive an. Das bedeutet, daß mit einer Wahrscheinlichkeit von mehr als 95 % der Unterschied der verglichenen Mittelwerte nicht zufällig auftritt.

E r g e b n i s s e =====

I.

^{51}Cr -EDTA-Aufnahme und ECR linker Herzvorhöfe

Die Versuche mit linken Herzvorhöfen bei verschiedenen langen Inkubationszeiten in aktiver Tyrodelösung sollen nicht nur der Bestimmung des ECR, sondern zunächst einmal auch der Abklärung des Aufnahmeprozesses von ^{51}Cr -EDTA in das Gewebe dienen. In Abbildung 2 ist dargestellt, daß die Aufnahme von ^{51}Cr -EDTA in die Vorhöfe zunächst rasch ansteigt. Die aufgenommene Substanzmenge entspricht nach 10 min. einem Verteilungsraum von $16,61 \pm 1,88$ %FG (n = 12), nach 30 min. erreicht dieser scheinbare ECR eine Größe von $28,53 \pm 1,41$ %FG (n = 27), nach 60 min. $35,24 \pm 1,04$ %FG (n = 19). Es kommt dann zu einer Anstiegsverlangsamung: Bei 90 min. liegt der gemessene ^{51}Cr -EDTA-Verteilungsraum bei $36,89 \pm 0,83$ %rG (n = 22), bei 120 min. ist er $38,15 \pm 0,60$ %FG (n = 45). Im weiteren Verlauf bleibt die gemessene Größe praktisch konstant: Nach 150 min. ist sie $38,03 \pm 0,61$ %FG (n = 20), nach 180 min. $38,31 \pm 0,83$ %FG (n = 19). Nur bei einer lang dauernden Einwirkungszeit von 300 min. steigert sich der errechnete Wert auf $42,22 \pm 1,36$ %FG (n = 15).

Nicht signifikant unterschiedlich sind die für 90 bis 180 min. gemessenen Werte in allen Kombinationen untereinander, außerdem auch der Vergleich zwischen 60 und 90 min. Alle übrigen Signifikanzprüfungen weisen ein positives Ergebnis auf.

Unter Berücksichtigung weiterer Eigenschaften des ^{51}Cr -EDTA, die in der Diskussion besprochen werden, kann man aus diesem

Verhalten der ^{51}Cr -EDTA-Aufnahme folgende Betrachtungen ableiten:

Zwischen der aktiven Tyrodelösung und dem ECR des Gewebes stellt sich ein Diffusionsgleichgewicht ein; ^{51}Cr -EDTA diffundiert anfangs schnell, später langsamer in den ECR des Herzvorhofgewebes bis ein konstanter Wert erreicht ist. Dieser entspricht dem ECR des Vorhofs. In die Zellen ist ^{51}Cr -EDTA nicht eingedrungen.

Manche Autoren (TUTTLE, WITT, FARAH 1961; GOODFORD, LÜLLMANN 1962; BAUER, LÜLLMANN und RICHTER 1963) stellen bei ähnlichen Betrachtungen (und anderen Testsubstanzen) keinen konstanten Wert aufgenommener Menge von Testsubstanz für diesen Zeitraum, sondern eine lineare Steigerung der aufgenommenen Menge über diesen Zeitraum fest (im Gegensatz zu einer exponentiellen Steigerung zu Beginn). Sie halten darum eine Extrapolation des ECR-Wertes auf den Zeitpunkt des Inkubationsbeginns für notwendig. Eine lineare Steigerung, wie oben geschildert, ist in diesem Versuch jedoch nicht eindeutig feststellbar, so daß man den Mittelwert aller zwischen 90 und 180 min. gemessenen Werte als durchschnittlich ermittelten ECR linker Meerschweinchenherzvorhöfe angeben kann: $37,91 \pm 0,58$ %FG ($n = 106$). Ein ähnliches Verfahren mit Inulin als Testsubstanz wendet HOCHREIN 1965 bei der ECR-Bestimmung am Rattenmyocard mit der Auswaschmethode bei kleinen Gewebstücken (unter 200 mg) an.

Der wieder höher liegende Wert von 42,22 %FG für einen Inkubationszeitraum von fünf Stunden kann als Zeichen einer nach so langer Zeit eintretenden Membranschädigung angesehen werden, sei es, daß physiologische Verhältnisse bei so langer Inkubation doch nicht aufrechterhalten werden können, sei es durch eine zu lange Einwirkung der Testsubstanz auf das Gewebe.

Unter Berücksichtigung aller gefundenen Tatsachen kann man 120 min. als die optimale Inkubationszeit für die ECR-Bestimmung solcher und ähnlicher Gewebsstücke mit ^{51}Cr -EDTA ansehen. Der gefundene Wert $38,15 \pm 0,60$ %FG ($n = 45$) wird als Kontrollwert für Vergleiche mit Versuchen unter anderen Bedingungen herangezogen.

Der ECR rechter Herzvorhöfe

Unter völlig gleichen Bedingungen wird der ECR für rechte Vorhöfe ermittelt. Er beträgt $36,63 \pm 0,73$ %FG ($n = 27$) und weist keinen signifikanten Unterschied zum ECR linker Vorhöfe auf ($0,05 < p < 0,1$). Auch andere Autoren messen den ECR des rechten Vorhofes kleiner als den des linken, ohne eine Signifikanz des Unterschiedes festzustellen (BARCLEY, HAMLEY and HONGHTON 1960).

Der ECR bei Hypothermie

Der Einfluß der Temperatur auf den ECR soll gemessen werden, da darüber bisher wenig Veröffentlichungen vorliegen. In Abbildung 3 kann man deutlich sehen, daß der ECR der untersuchten linken Herzvorhöfe mit sinkender Temperatur gegenüber dem Kontrollwert $38,15 \pm 0,60$ %FG ($n = 45$) deutlich kleiner wird. Er sinkt bei 30°C auf $35,77 \pm 0,55$ %FG ($n = 15$), bei 20°C auf $34,81 \pm 0,92$ %FG ($n = 15$) und bei 10°C auf $31,83 \pm 1,44$ %FG ($n = 15$) ab. Alle Werte sind zum Kontrollwert signifikant unterschiedlich (30°C : $p < 0,025$; 20°C : $p < 0,005$; 10°C : $p < 0,0005$).

ECR und Anoxie

In Abbildung 4 ist das Ergebnis von Versuchen eingetragen, bei denen die linken Herzvorhöfe zwei, drei und fünf Stunden

lang bei Anoxie inkubiert werden; das Verfahren der ECR-Messung ist sonst gleich den Kontrollversuchen. Der ECR wird signifikant kleiner: Bei zwei Stunden Anoxie beträgt er $32,06 \pm 1,21$ %FG ($n = 16$, $p < 0,0005$), bei drei Stunden Anoxie $31,76 \pm 1,28$ %FG ($n = 16$, $p < 0,0005$). Ebenfalls signifikant ist der Unterschied zum Kontrollwert, der nach fünf Stunden Anoxie auftritt. Hier ist der gemessene ECR allerdings gesteigert: $42,23 \pm 1,24$ %FG ($n = 16$, $p < 0,0005$). Es scheint eine beträchtliche Membranschädigung durch Anoxie vorzuliegen. Der hier gemessene Wert bei fünf Stunden Anoxie (zwei Stunden in aktiver Tyrode) ist jedoch nicht zu wechseln mit dem Wert, der bei fünf Stunden Inkubation in aktiver Tyrodelösung mit Carbogen ermittelt wird.

II.

Der ECR nach Bestrahlung

In Abbildung 5 wird das Verhalten ruhender linker Vorhöfe in Bezug auf den ECR in Abhängigkeit von der Strahlendosis dargestellt. Die Kontrollwerte ($n = 32$) liegen bei $36,63 \pm 0,89$ %FG und sind nicht signifikant unterschiedlich zu den Werten im ersten Teil der Arbeit bei der Entwicklung der Meßmethode. Dosisabhängig steigt der ECR bei 3 kR auf nicht signifikant von den Kontrollen unterschiedliche $37,94 \pm 0,73$ %FG ($n = 20$), bei 6 kR auf $39,84 \pm 0,85$ %FG ($n = 20$, $p < 0,0125$), bei 10 kR auf $42,26 \pm 0,76$ %FG ($n = 20$, $p < 0,0005$) und bei 20 kR schließlich auf $44,74 \pm 0,88$ %FG ($n = 20$, $p < 0,0005$). Die Unterschiede zwischen dem Kontrollwert und den Werten für den ECR bei 6 bis 20 kR Bestrahlung sind signifikant.

Das Verhalten des ECR rechter (z.T. spontan schlagender) Vorhöfe in Abhängigkeit von der Strahlendosis stellt sich in Abbildung 6 ähnlich dar. Zwar weisen hier die Kollektive

mit den Bestrahlungsdosen 3 kR und 6 kR zu den Kontrollwerten keinen signifikanten Unterschied auf, die Tendenz läuft jedoch in gleicher Richtung wie bei den linken Vorhöfen. Bei 10 kR und 20 kR hat sich auch hier der ECR signifikant verändert. Die gemessenen Werte sind: Kontrollen $36,35 \pm 0,65$ %FG (n = 30); 3 kR $37,28 \pm 0,59$ %FG (n = 20); 6 kR $37,72 \pm 0,99$ %FG (n = 20); 10 kR $41,55 \pm 0,85$ %FG (n = 20, $p < 0,0005$); 20 kR $44,38 \pm 1,05$ %FG (n = 18, $p < 0,0005$).

Gesamtwasser

Die durch Trocknung und Wiegen erhaltenen Werte des Gesamtwassergehaltes der Präparate weisen keine Beeinflussung durch die Röntgenstrahlung auf. Das Verhalten dieser Größe ist unauffällig und muß als im Mittel konstant betrachtet werden. Für linke Vorhöfe liegen die Werte bei 78 %FG (Tab. 3), für rechte bei 76,5 %FG (Tab. 4). Signifikanzen treten nicht auf.

Der intrazelluläre Wassergehalt

Aus Gesamtwasser und ECR läßt sich wie oben beschrieben der intrazelluläre Wassergehalt errechnen. In den Abbildungen 7 und 8 ist dieser in Prozent des Intrazellulär-raumes in Abhängigkeit von der Strahlendosis für linke und rechte Vorhöfe dargestellt. Man sieht in beiden Diagrammen eine deutliche Abnahme dieser Größen parallel zu der Dosiszunahme.

Die errechneten Werte sind für linke Vorhöfe: Kontrollen $65,87 \pm 0,63$ % (n = 32); 3 kR $64,24 \pm 0,60$ % (n = 20, $p < 0,05$); 6 kR $63,66 \pm 0,43$ % (n = 20, $p < 0,01$); 10 kR $60,90 \pm 0,63$ % (n = 20, $p < 0,0005$); 20 kR $59,40 \pm 0,95$ % (n = 20, $p < 0,0005$). Signifikante Unterschiede zum Kontrollkollektiv treten schon ab 3 kR Strahlendosis auf.

Für rechte Vorhöfe ergeben sich diese Werte: Kontrollen $63,47 \pm 0,65 \%$ ($n = 32$); 3 kR $63,33 \pm 0,45 \%$ ($n = 20$, nicht signifikant); 6 kR $61,82 \pm 0,76 \%$ ($n = 20$, $p < 0,05$); 10 kR $58,56 \pm 0,86 \%$ ($n = 20$, $p < 0,0005$); 20 kR $58,02 \pm 1,29 \%$ ($n = 18$, $p < 0,0005$). Signifikanzen können hier ab 6 kR gefunden werden.

Die Na^+ - und K^+ -Gesamtkonzentrationen der Gewebsstücke

Ohne Berücksichtigung des ECR und des Wassergehaltes lassen sich die Na^+ - und K^+ -Konzentrationen der Herzvorhöfe, bezogen auf das Feuchtgewicht, darstellen.

Die Tabellen 1 und 2 zeigen diese Werte. Die Dimension der Werte ist mVal/kg FG .

Bei den linken Vorhöfen steigt die anfängliche Na^+ -Konzentration von $63,59 \pm 0,70$ (Kontrollen) auf schließlich $70,34 \pm 1,87$ (bei 20 kR) an. Die K^+ -Konzentration sinkt parallel von $63,91 \pm 0,69$ (Kontrollen) auf $55,47 \pm 1,58$ (bei 20 kR). Der Na^+ -Anstieg ist bei 10 und 20 kR signifikant ($p < 0,0025$ bzw. $p < 0,0005$), das Absinken der K^+ -Konzentration bei 6, 10 und 20 kR ($p = 0,05$ bzw. $p < 0,0005$ bzw. $p < 0,0005$).

Die rechten Vorhöfe verhalten sich entsprechend. Die Na^+ -Gesamtkonzentration steigt von $61,52 \pm 1,30$ (Kontrollen) auf $70,18 \pm 3,60$ (20 kR), die K^+ - Gesamtkonzentration sinkt von $62,37 \pm 1,15$ (Kontrollen) auf $53,90 \pm 1,65$ (20 kR). Der Na^+ -Anstieg ist bei 10 und 20 kR ($p < 0,005$ bzw. $p < 0,01$) signifikant, ebenso der K^+ -Verlust ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,0005$).

Die intrazellulären Na^+ - und K^+ -Konzentrationen

In Tabelle 3 und 4 sind die Ergebnisse der Berechnung von intrazellulären Na^+ - und K^+ - Konzentrationen linker und rechter Herzvorhöfe zusammen mit dem Wassergehalt und dem ECR dargestellt. Zum einen erfolgen die Angaben in mVal/l Zellwasser (Faserwasser). Dabei treten bei 10 und 20 kR Strahlendosis signifikante Steigerungen des Kaliumgehaltes der linken Vorhöfe auf ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,0025$), aber auch bei 3 und 6 kR liegen schon Steigerungen mit der gleichen

Tendenz vor. Bei der Natriumkonzentration ist ein solches Verhalten nicht festzustellen, zum Teil wohl auch, weil die Streubreite der gemessenen Werte hier relativ höher liegt. Die Summe der K^+ - und Na^+ -Konzentrationen zeigt ein ähnliches Verhalten wie die Kaliumkonzentration allein.

Um eine von auftretenden Wasserverschiebungen zwischen AHR und Intrazellulärraum unabhängige Größe zu erhalten, kann man die intrazelluläre Kationenmenge auch auf die Trockensubstanz beziehen; die Angaben erfolgen dann in mVal/kg Trockengewicht. Hieraus lassen sich dann Schlüsse auf die tatsächlich infolge der Bestrahlung auftretenden Ionenströmungen durch die Zellmembran ziehen. Auch die so erhaltenen Werte sind in Tab. 3 und 4 dargestellt. Hierbei tritt dann eine Abnahme der Kaliummenge im linken Vorhof auf, die bei 10 und 20 kR signifikant ist (jeweils $p < 0,0005$). Jetzt zeigt sich auch in der Tendenz eine Natriumabnahme, die jedoch nicht signifikant ist.

Die gleichen Überlegungen werden auch für die rechten Vorhöfe angestellt. Signifikante Steigerungen des intrazellulären Kaliumgehaltes bei Bezug auf das Zellwasser liegen wie bei den linken Vorhöfen auch hier bei 10 und 20 kR vor ($p < 0,025$ bzw. $p < 0,0005$). Kaliumabnahmen bei Bezug auf die Trockensubstanz sind ebenfalls ab 10 kR signifikant ($p < 0,025$ bzw. $p < 0,01$). Auch bei den rechten Vorhöfen läßt sich eine signifikante Veränderung des intrazellulären Natriumgehaltes nicht nachweisen.

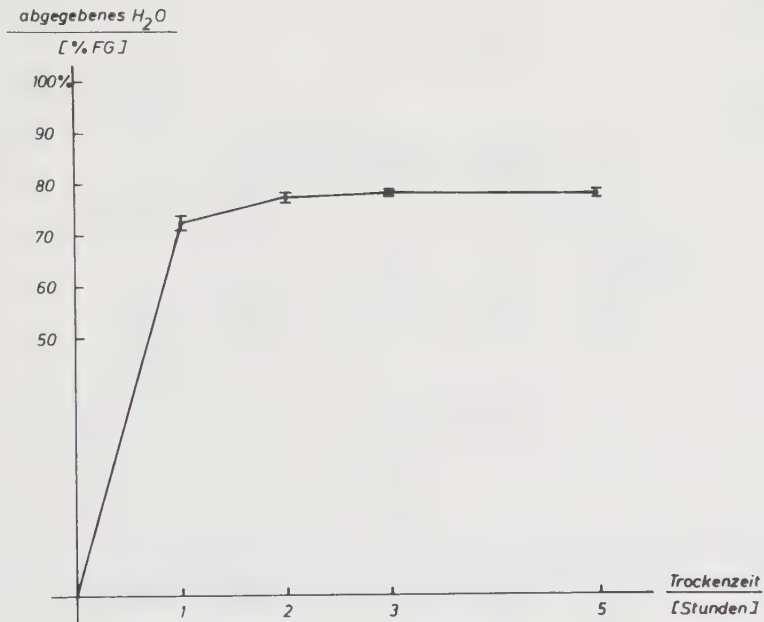


Abb. 1: Wasserabgabe isolierter linker Herzvorhöfe
im Verlaufe einer Trocknung bei 105°C

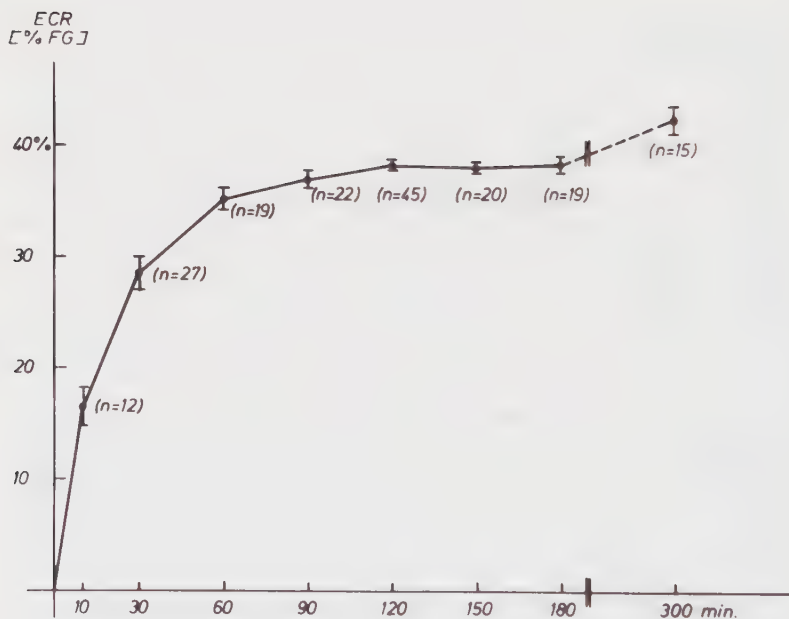


Abb. 2: Gemessener Extrazellulärraum isolierter linker Meerschweinchenvorhöfe in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer in ^{51}Cr -EDTA-haltiger Tyrodelösung

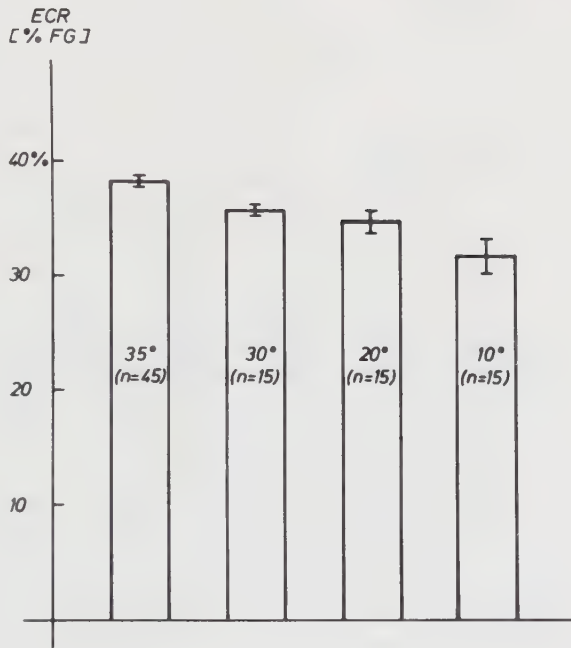


Abb. 3: Extrazellulärraum in Abhängigkeit von der Temperatur der Inkubationsflüssigkeit

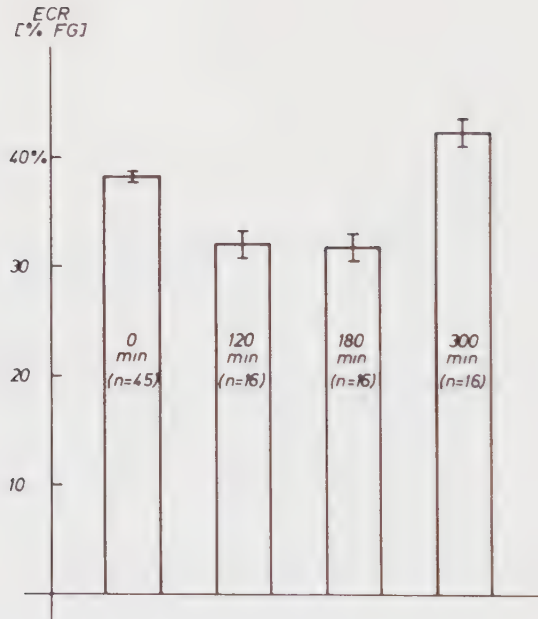


Abb. 4: Extrazellulärraum linker isolierter Herzvorhöfe unter Kontroll- und Anoxiebedingungen

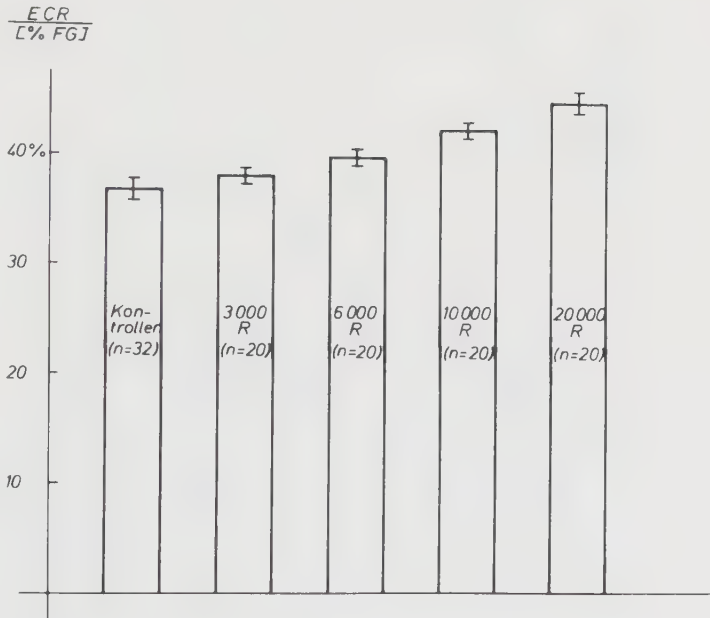


Abb. 5: Extrazellulärraum isolierter linker Herzvorhöfe unter Kontrollbedingungen und nach Bestrahlung mit 3, 6, 10 und 20 kR

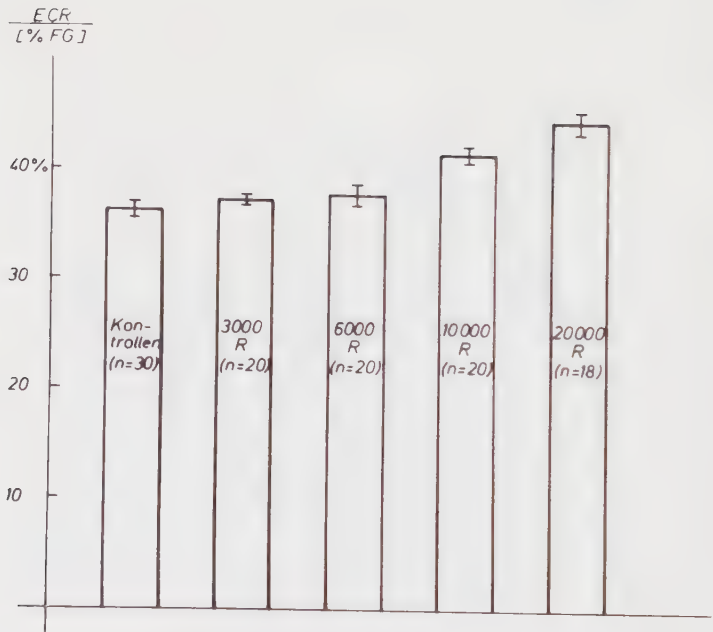


Abb. 6: Extrazellulärraum isolierter rechter Vorhöfe unter Kontrollbedingungen und nach Bestrahlung mit 3, 6, 10 und 20 kR

Zell-Wasser
[%FG]

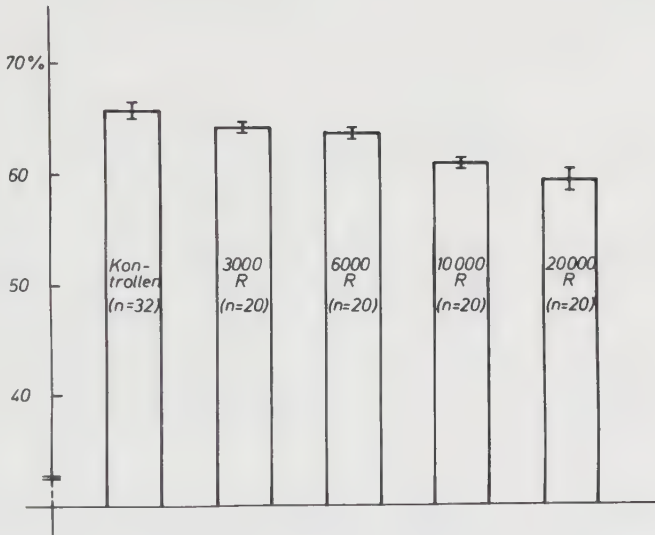
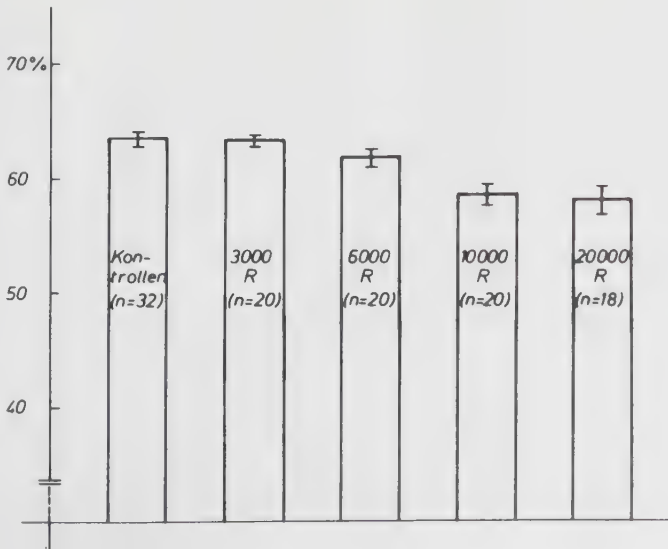


Abb. 7 und 8: Intrazelluläres H₂O unbestrahlter und bestrahlter linker und rechter Herzvorhöfe.

Zell-Wasser
[%FG]



Tab. 1: Na⁺- und K⁺-Gesamtkonzentrationen isolierter linker Meerschweinchenherzvorhöfe unter Kontrollbedingungen und nach Bestrahlung.

	n	Natrium [m Val /	Kalium kg Feuchtgewicht]	Na + K
Kontrollen	32	63,59 ± 0,70	63,91 ± 0,69	127,50
3 000 R	20	63,59 ± 1,90	63,21 ± 1,49	126,80
6 000 R	20	64,56 ± 1,64	61,71 ± 1,24	126,27
10 000 R	20	68,57 ± 1,67	57,22 ± 1,64	125,79
20 000 R	20	70,34 ± 1,87	55,47 ± 1,58	125,81

Tab. 2: Na⁺- und K⁺-Gesamtkonzentrationen isolierter rechter Meerschweinchenherzvorhöfe unter Kontrollbedingungen und nach Bestrahlung.

	n	Natrium [m Val /	Kalium kg Feuchtgewicht]	Na + K
Kontrollen	30	61,52 ± 1,30	62,37 ± 1,15	123,89
3 000 R	20	61,56 ± 1,47	62,78 ± 1,31	124,34
6 000 R	20	63,17 ± 2,41	61,33 ± 1,61	124,40
10 000 R	20	68,02 ± 2,03	57,36 ± 2,67	125,38
20 000 R	18	70,18 ± 3,60	53,90 ± 1,65	124,08

Tab. 3 : Wassergehalt, Extracellulärraum und intracelluläre Natrium- und Kaliumkonzentrationen von isolierten linken Herzvorhöfen unter Kontrollbedingungen und nach Bestrahlung

	n	Gesamt- Wasser [%FG]	Zell- Wasser [%]	ECR [%FG]	Natrium [mVal/	Kalium l	Na _i + K _i Zellwasser]	Natrium [mVal/	Kalium kg Zellsubstanz]
Kontrollen	32	78,51	65,87 ±0,67	36,63 ±0,89	19,37 ±2,95	150,28 ±3,89	169,65	39,44 ±6,60	286,34 ±3,82
3000 R	20	77,88	64,24 ±0,60	37,94 ±0,73	17,78 ±3,58	156,86 ±4,00	174,64	35,87 ±6,45	285,39 ±8,15
6000 R	20	78,08	63,66 ±0,43	39,84 ±0,85	18,88 ±3,38	158,88 ±3,65	177,76	33,21 ±5,88	277,99 ±5,84
10 000 R	20	77,48	60,90 ±0,63	42,26 ±0,76	18,74 ±3,51	164,91 ±3,19	183,65	29,42 ±5,31	257,15 ±4,90
20 000 R	20	77,69	59,40 ±0,95	44,73 ±0,88	17,55 ±2,81	169,46 ±3,04	187,01	25,48 ±4,18	241,88 ±7,97

Tab. 4: Wassergehalt, Extracellulärraum und intracelluläre Natrium- und Kaliumkonzentrationen von isolierten rechten Herzvorhöfen unter Kontrollbedingungen und nach Bestrahlung

	n	Gesamt- Wasser [%FG]	Zell- Wasser %	ECR [%FG]	Natrium [mVal/	Kalium l	Na _i +K _i Zellwasser]	Natrium [mVal /	Kalium kg Zellsubstanz]
Kontrollen	30	77,00	63,47 ±0,65	36,35 ±0,65	18,20 ±2,57	148,95 ±2,43	167,15	33,94 ±7,79	267,62 ±6,21
3000 R	20	76,72	63,33 ±0,45	37,28 ±0,59	18,21 ±2,97	155,53 ±4,30	173,74	31,02 ±4,59	268,16 ±5,81
6000 R	20	76,44	61,82 ±0,76	37,72 ±0,99	17,79 ±5,10	159,31 ±3,29	177,10	29,49 ±7,57	258,24 ±7,32
10 000 R	20	75,90	58,56 ±0,86	41,55 ±0,85	22,40 ±6,09	167,85 ±4,89	188,25	28,90 ±8,99	244,49 ±10,00
20 000 R	18	77,23	58,02 ±1,29	44,38 ±1,05	19,97 ±5,30	171,49 ±5,73	191,46	27,33 ±6,99	238,62 ±9,23

- 30 -

D i s k u s s i o n

=====

I.

Die Ergebnisse einer ECR-Bestimmung am Herzmuskelgewebe können sicher von vielen Faktoren beeinflusst werden.

Zunächst sind Speziesunterschiede in Erwägung zu ziehen. Hierzu seien als Beispiel einige ausschließlich an isolierten Herzvorhöfen mit Inulin als Testsubstanz erzielte Ergebnisse aufgeführt. HAAS, HANTSCH, OTTER und SIEGEL (1967) geben für den Frosch 40 % des Feuchtgewichts an. Beim Meerschweinchen erzielt GLITSCH (1969) einen Meßwert von ca. 37 %. RAYNER and WEATHERALL (1957) ermitteln für das Kaninchen 44,1 %. Für die Ratte bestimmen BARCLAY, HAMLEY and HOUGHTON (1960) auf diese Weise den Vorhofs-ECR links mit 21,8 % und rechts mit 24,8 %. BAUER, LÜLLMANN und RICHTER (1963) schließlich erreichen einen Wert beim Meerschweinchen von 31,1 %.

Ohne Zweifel bestehen auch Unterschiede der Größe des ECR zwischen Vorhof und Ventrikel. Auch hier seien, um objektive Vergleiche anstellen zu können, nur mit Inulin erzielte Werte aufgeführt. Den erstaunlich niedrigen Wert für den ECR des Ventrikels der Ratte von 9 ml/100 ml Gewebs-H₂O = ca. 11,5 %FG von HOCHREIN, REINERT und KRIEGSMANN (1965) bestätigen BARCLAY, HAMLEY and HOUGHTON (1960) mit ihren Messungen ebenfalls an der Ratte, sie zeigen aber auch, daß der ECR des Vorhofs ganz andere Werte aufweist. Ihre Ergebnisse sind: Linker Vorhof 21,8 % des Feuchtgewichts, rechter Vorhof 24,8 %, linker Ventrikel 9,1 %, rechter Ventrikel 15,1%. Ähnliche Messungen werden in der gleichen Arbeit beim Kaninchen durchgeführt: Linker Vorhof 28,4 %, rechter Vorhof 25,6%,

linker Ventrikel 11,8 %, rechter Ventrikel 21,4 %. Vergleichbar damit ist ein Wert von TUTTLE, WITT and FARAH (1961), der den ECR der Herzkammer, beim Kaninchen mit Inulin ermittelt, mit 20 % des Feuchtgewichts angibt.

Wichtige Unterschiede der Ergebnisse von ECR-Bestimmungen können auch durch die Verwendung unterschiedlicher Testsubstanzen hervorgerufen werden. HAAS, HANTSCH, OTTER und SIEGEL (1967) bestimmen unter sonst gleichen Bedingungen den ECR des Froschherzvorhofs mit Hilfe von drei verschiedenen Substanzen; für ^{14}C -Manitol erhalten sie 42 %, für ^{14}C -Inulin 40 % und für $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ 38 %. Die weiteren hier aufgeführten Ergebnisse sind alle am isolierten Vorhof des Meerschweinchenherzens ermittelt: BAUER, LÜLLMANN und RICHTER (1963) finden mit ^{35}S -markiertem Methylsulfat 31,8% und mit Inulin wie schon erwähnt 31,1%. GOODFORD und LÜLLMANN (1962) messen mit ^{35}S -markiertem Äthylsulfat 26%. Bei LAHRTZ, LÜLLMANN und VAN ZWIETEN (1967) wird mit einem Wert von 35% gearbeitet, der mit ^{14}C -Saccharose ermittelt wurde. GLITSCH gibt in der schon oben erwähnten Arbeit 37% als Größe des Inulinraumes an.

Folglich kann der in dieser Arbeit ermittelte Wert von 37,91% des Feuchtgewichts (alle Werte von 90 bis 180 min. Inkubationszeit) für den linken Vorhof und 36,63 %FG für den rechten Vorhof (120 min.) als in Übereinstimmung mit der Literatur angesehen werden.

Wenig untersucht war bisher der Einfluß der Temperatur auf die Größe des ECR. Es ist deshalb nicht verwunderlich, wenn manche Autoren wenig Gewicht auf die Temperatur der Inkubationsflüssigkeit legen. Sie schwankt zwischen 38°C und "Zimmertemperatur" oder wird oft gar nicht angegeben. PAGE and SOLOMON (1960) erwähnen zwar den Unterschied der von ihnen bei 37°C - 38°C und 27°C - 28°C gemessenen Größen des ECR.

Er beträgt 29 % bzw. 26 % des Gesamtwassers und wird mit ^{14}C -markiertem Inulin am Papillarmuskel des Katzenherzens bestimmt. Doch erst GLITSCH macht deutlich, wie sehr der ECR von der Temperatur abhängig sein kann. Bei 35°C ermittelt er am Herzvorhof des Meerschweinchens mit Inulin die schon oben erwähnten 37 % des FG. Bei 4°C sind es allerdings nur ca. 30 %. Die vorliegende Arbeit stellt diese Abhängigkeit noch deutlicher dar.

Unterschiede, die darauf beruhen, daß Bestimmungen des ECR in vivo oder in vitro durchgeführt werden, können von BAUER, LÜLLMANN und RICHTER (1963) ausgeschlossen werden; sie ermitteln für In-Vitro-Bestimmungen mit Inulin die oben erwähnten 31,1 %; parallele In-Vivo-Versuche ergeben 31,0 %. Jedoch sind andere Möglichkeiten von Einwirkungen unterschiedlicher Versuchsbedingungen auf die gemessene Größe nicht von der Hand zu weisen, speziell die Auswirkungen unterschiedlicher Behandlung der Gewebstücke nach der Inkubation und zur Vorbereitung der Feuchtgewichtsbestimmung.

Die von uns gefundenen ECR-Veränderungen bei Anoxie lassen es auch geboten erscheinen, alle Versuche dieser Art nur an ausreichend mit Sauerstoff versorgten Gewebstücken durchzuführen. Der primäre ECR-Abfall muß hier als Bildung eines interfibrillären Ödems, der spätere Anstieg als eine Membranschädigung angesehen werden.

Es erhebt sich an dieser Stelle die Frage nach dem Grund für die Verwendung ausgerechnet von ^{51}Cr -EDTA für die ECR-Bestimmung. Zunächst ist zu klären, ob ^{51}Cr -EDTA überhaupt die Bedingungen erfüllt, die an eine Testsubstanz für diesen Zweck zu stellen sind. In Arbeiten von BRIEN u.a. (1969), BURCK (1970), CHANTLER u.a. (1969), GARNETT u.a. (1967) und PIXBERG (1968) wird nachgewiesen, daß der Komplex nicht in die Zelle eindringt und seine Plasmabindung gering ist.

STACY u.a. (1966) zeigt, daß die Substanz inert ist, daß also kein Metabolismus stattfindet. UTHGENAINT u.a. (1965) weist auf die hohe Stabilität des Cr-EDTA hin. Damit sind wichtige Voraussetzungen für seine Verwendung gegeben.

Das mit 343 gegen Inulin (5.100) kleine Molekulargewicht ist ein nicht zu übersehender Vorteil dieser Substanz. Vor allem aber das einfache Meßverfahren (die Aktivität ganzer Gewebsstücke wird im Bohrloch gemessen) läßt die Verwendung von ^{51}Cr -EDTA günstig erscheinen. Entscheidend ist aber die Tatsache, daß das gleiche Gewebstück zur Messung anderer Größen weiter verwendet werden kann, wie im weiteren Verlauf der Arbeit zur Messung des K^+ -, Na^+ - und H_2O -Gehalts. Auf diese Art und Weise kann bei der folgenden Berechnung der intrazellulären Kationenkonzentration für jedes Gewebstück der individuell gemessene ECR berücksichtigt werden und nicht ein aus einem anderen Kollektiv bestimmter Mittelwert. Dadurch können Fehler bei der intrazellulären Kationenkonzentrationsbestimmung kleiner gehalten werden.

Wie sehr sich Fehler der ECR-Bestimmung auf diese Werte auswirken können, zeigen STAIB und JUDT (1968). Das intrazelluläre Kalium weist bei einer ECR-Fehlbestimmung von 10% einen Fehler von ca. 12 bis 14 % auf, das Natrium allerdings einen Fehler von 45 bis 60 %.

II.

Nach Röntgenbestrahlung kommt es bei verschiedenen Zell- und Gewebsarten zu einem intrazellulären Kaliumverlust und Natriumanstieg. BERGEDER (1958) weist am isolierten M. sartorius des Frosches einen Kaliumverlust nach einer Strahlendosis von allerdings 200 kR nach, der nach 3 bis 4 Stunden sehr deutliche Ausmaße annimmt. Bei 100 kR ist der Effekt gering. An der mit 72 kR bestrahlten Skelettmuskulatur der Ratte kann

Bergeder nach 22 Stunden keinen Kaliumverlust nachweisen. Impftumoren, die sehr viel strahlenempfindlicher als Muskelgewebe sind, zeigen wiederum schon bei 1 bis 10 kR eine Kaliumabnahme. Offenbar liegen sehr große Unterschiede in der Beeinflußbarkeit verschiedener Gewebsarten durch Röntgenstrahlen vor.

In einer weiteren Arbeit gibt BERGEDER (1961) die "Schwelendosis" für den Effekt einer Kaliumabgabe am isolierten *M. sartorius* des Frosches mit 50 kR an, die Abgabe bleibt aber selbst in diesem schon hohen Dosisbereich noch klein und wird erst ab 200 kR bedeutend. Ganzkörperbestrahlte Mäuse (8 kR) dagegen weisen nach einem Tag einen erhöhten Kaliumgehalt des Muskels auf, während andere Organe offenbar über den Kreislauf Kalium an ihn abgegeben haben. Auch das mit hohen Dosen bestrahlte Gehirn der Ratte gibt Kalium ab.

An der Ratte sind auch die Arbeiten von BOWERS and SCOTT (1951) interessant. Bei ca. 1000 R Ganzkörperbestrahlung steigt der Kaliumgehalt des Herzmuskels und des Skelettmuskels einen Tag nach der Bestrahlung an (wohl durch gleichzeitigen Kaliumverlust sensibler Organe) und sinkt am zweiten und dritten Tag unter den Kontrollwert ab. Auch andere Organe nehmen je nach Sensibilität entweder zuerst etwas Kalium auf oder verlieren mehr oder weniger. Berücksichtigt wird jedoch nur das Gesamtkalium, so daß die Ergebnisse relativiert werden müssen.

Die zweite Arbeit der gleichen Autoren (1951) befaßt sich mit dem Verhalten der Organe ganzkörperbestrahlter Ratten in bezug auf den Natriumgehalt. Nach einer Strahlendosis von 800 R weisen die meisten Organe in den ersten Tagen einen Anstieg des Natriumgehaltes auf. Dieser Anstieg könnte aber auch leicht auf Kosten einer ECR-Vergrößerung zustande kommen.

Einer Ganzkörperbestrahlung unterziehen auch BREUER, PARCHWITZ und WINKLER (1958) die von ihnen ebenfalls verwendeten Ratten (2000 R). Nach drei Tagen liegt in der quergestreiften Muskulatur ein signifikanter Anstieg des Gesamtkaliumgehaltes und ein Abfall des Gesamtnatriumgehaltes vor, offensichtlich bedingt durch Kaliumabfall und Natriumanstieg in strahlensensiblen Organen. Bei adrenaletomierten Tieren tritt dieser Effekt nicht auf. K^+ - und auch Na^+ -Gehalt des Muskels fallen leicht ab.

Hochbestrahlte Hefezellen untersuchten RINK und BERGEDER (1968); sie stellen K^+ -Konzentrationsabfall und Na^+ -Anstieg fest. In ähnliche Richtung weisen auch Versuche von SHAPIRO and KOLLMANN (1968) an bestrahlten Erythrocytensuspensionen.

Die Summe dieser Veröffentlichungen läßt zunächst den Schluß zu, daß bei Ganzkörperbestrahlungen (Dosis um 1000 R) strahlensensible Organe K^+ abgeben und Na^+ aufnehmen. Das Kalium gelangt in den Kreislauf und in andere strahlenresistentere Gewebe, die es unter Mitwirkung humoraler Faktoren intrazellulär aufnehmen. Nur bei hohen Strahlendosen, die isolierter Herz- und Skelettmuskulatur appliziert werden, können bisher auch bei diesen strahlenresistenten Gewebsarten Kaliumabgabe und teilweise Natriumaufnahme in die Zelle festgestellt werden. Die beschriebenen Effekte treten in den ersten Stunden bei isolierten Geweben und in den ersten Tagen bei Organen *in vivo* auf.

Diese Überlegungen werden gestärkt durch Untersuchungen von HOCHREIN, BRAUN, REINERT und KRIEGSMANN (1963) am Rattenmyocard. Sie berechnen die intrazelluläre Kationenkonzentration und wiesen ein bis drei Tage nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 600 R einen signifikanten Kaliumanstieg und Natriumabfall in der Herzmuskelzelle nach. In dieser Arbeit geben Hochrein u.a. auch ein Absinken der Größe des ECR des Gewebes an.

Dem widerspricht eine Arbeit von WILDE und SHEPPARD (1955). Die mit ca. 37 bis 73 kR bestrahlte Vorderbeinmuskulatur der Ratte weist deutlich einen Anstieg des ECR auf. Der Gesamtkaliumgehalt bleibt dabei konstant.

Einen intrazellulären Kaliumanstieg am isoliert bestrahlten (Langendorf-) Herzen des Meerschweinchens beschreiben allein LÖHR und BUCHELT (1968) und (1972).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können nur bedingt in Beziehung gesetzt werden zu den oben zitierten Autoren. Denn alle diese Arbeiten werden entweder mit sehr hohen Strahlendosen durchgeführt, oder sie sind der Beeinflussung durch den Gesamtorganismus (bei Ganzkörperbestrahlung) ausgesetzt. Oft finden die Messungen auch erst Tage nach der Bestrahlung statt, während hier schon zwei Stunden nach der Bestrahlung mit 3 bis 20 kR die zu messenden Größen ermittelt werden, also frühe Effekte der Strahlen festgestellt werden sollen.

Bei alleiniger Betrachtung des Verhaltens der Na^+ - und K^+ -Gesamtkonzentrationen des bestrahlten Herzmuskelgewebes liegt in dieser Arbeit eine weitgehende Übereinstimmung mit den oben schon zitierten Arbeiten vor, die unter wenigstens in etwa vergleichbaren Bedingungen und an ähnlichen Objekten vorgenommen wurden. Ein signifikanter Na^+ -Anstieg und K^+ -Verlust kann hier allerdings schon bei niedrigeren Strahlendosen (ab 10 kR) nachgewiesen werden. Bei 3 kR läßt sich in keinem Fall eine Änderung der K^+ - oder Na^+ -Gesamtkonzentration nachweisen.

Die festgestellte ECR-Steigerung korreliert mit den Ergebnissen der Arbeit von WILDE und SHEPPARD. Da das Gesamtwasser allerdings konstant bleibt, kommt es zu einer Abnahme des intrazellulären Wassergehaltes. Es findet also eine Wasserverschiebung aus der Zelle in den ECR statt.

Logischerweise steigt dabei die auf das Zellwasser bezogene

Kationenkonzentration an, wenn keine gleichgerichtete Strömung der Kationen stattfindet. Das scheint zunächst nicht feststellbar zu sein, denn die Kaliumkonzentration auf 1 Faserwasser bezogen steigt tatsächlich. Der Bezug der intrazellulären Kationen auf das Trockengewicht erweist aber, daß doch ein Teil der K^+ -Ionen die Zellen mit dem Wasser verlassen hat.

Es kommt also zu der allerdings nur scheinbar paradoxen Situation, daß zwar Kalium aus den Zellen ausgeströmt ist, die relative Kaliumkonzentration aber trotzdem ansteigt. Wegen der relativ großen Streubreite der Natriumwerte läßt sich keine signifikante Aussage über das Verhalten des Natriums gewinnen. Die Tendenz eines leichten Na^+ -Ausstroms parallel zum Wasserausstrom ist jedoch sichtbar.

Alle Ergebnisse müssen auch unter dem Aspekt der für den Herzmuskel niedrigen Strahlendosis gesehen werden. Inwiefern die festgestellten Veränderungen reversibel sind, läßt sich bei In-Vitro-Versuchen dieser Art nicht klären.

Die gefundenen Werte für die Kontrollgruppen stimmen mit ca. 150 mVal/l FW Kalium und ca. 20 mVal/l FW Natrium durchaus mit der Literatur überein (GLITSCH 1969; PAGE and SOLOMON 1960; TAYLER, HUFFINES and YOUNG 1961; LARTZ, LÜLLMANN und VAN ZWIETEN 1967).

Einige mögliche Fehlerquellen in dieser Arbeit lassen sich bei den hier erzielten Ergebnissen nicht ausschließen. Zunächst ist es denkbar, daß durch die Bestrahlung des Gewebes chemische Reaktionen (z.B. Radikalbildung) ausgelöst werden, die später das verwendete EDTA als Angriffssubstanz benutzen und somit Einfluß auf die ECR-Bestimmung nehmen. Die chemischen Vorgänge an bestrahlten biologischen Objekten sind noch zu wenig bekannt, um eine solche Einflußnahme auszuschließen.

Weiter könnte es anstatt des oben angenommenen Wasser- und Ionen-Ausstroms auch bei diesen Strahlendosen evtl. schon zu

Zellnekrosen gekommen sein. Hierdurch würden natürlich ECR-Messung sowie Bestimmung und Berechnung von K^+ - und Na^+ -Gehalt verfälscht.

Zum Ausschluß dieser Fehlerquellen oder ihrer Feststellung und Beachtung bedarf es jedoch mir nicht zugänglicher und den Rahmen dieser Arbeit übersteigender methodischer Mittel.

Z u s a m m e n f a s s u n g

=====

Der Extrazellulärraum (ECR) isolierter linker und rechter Herzvorhöfe von Meerschweinchen wird mit ^{51}Cr -EDTA untersucht.

Unter dieser Bedingung beträgt der ECR bei 35°C links $37,91 \pm 0,58$ %FG und rechts $36,63 \pm 0,73$ %FG.

Bei Hypothermie (30° , 20° und 10°C) und Anoxie kommt es zu einer signifikanten Verkleinerung des ECR des linken Vorhofs.

Der Vorteil der Methode besteht neben der einfachen Meßtechnik in der Möglichkeit, am gleichen Präparat ECR und Kationenkonzentrationen bestimmen zu können.

Die entwickelte Methode findet Anwendung bei der Untersuchung des Einflusses einer Röntgenbestrahlung (3 bis 20 kR) rechter und linker isolierter Meerschweinchenherzvorhöfe auf den ECR, den Wassergehalt und die intrazelluläre Kalium- und Natriumkonzentration.

Der ECR isolierter Herzvorhöfe wird ab 6 kR dosisabhängig vergrößert, der intrazelluläre Wassergehalt sinkt bereits ab 3 kR signifikant ab.

Der intrazelluläre Kaliumgehalt linker und rechter Herzvorhöfe fällt nach der Bestrahlung (ab 10 kR) deutlich ab.

Bezogen auf den (sinkenden) intrazellulären Wassergehalt steigt die Kaliumkonzentration jedoch.

Über das Verhalten des intrazellulären Natriums läßt sich wegen der Streubreite keine durch signifikante Ergebnisse abgesicherte Aussage machen.

Eventuelle Fehlerquellen in der Arbeit werden diskutiert.

L i t e r a t u r

=====

- 1) BARCLAY, J.A., E.J. HAMLEY and H. HOUGHTON
The inulin, sucrose, chloride and sodium space of the
isolated perfused rat heart.
J. Physiol. (Lond.) 149 (1959) 15
- 2) BARCLEY, J.A., E.J. HAMLEY and H. HOUGHTON
Electrolyte content of rat heart atria and ventricles.
Circulation Res. 8 (1960) 1264
- 3) BAUER, H., H. LÜLLMANN und M. RICHTER
Die Aufnahme von Methylsulfat-Ionen in die Vorhofs-
muskulatur von Meerschweinchen.
Pflügers Arch. 277 (1963) 48
- 4) BERGEDER, H.D.
Einfluß von Röntgenstrahlen auf isolierte Muskeln.
Strahlentherapie 106 (1958) 309
- 5) BERGEDER, H.D.
Untersuchungen zum Einfluß ionisierender Strahlen auf
Zellmembranen.
I. Änderung von Erregungsabläufen durch Röntgenstrahlen.
Strahlentherapie 114 (1961) 406
- 6) BERGEDER, H.D.
Untersuchungen zum Einfluß ionisierender Strahlen auf
Zellmembranen.
II. Änderungen von Membranpotential und Kaliumgehalt
des Muskels unter Einwirkung von Röntgenstrahlen.
Strahlentherapie 115 (1961) 90

- 7) BIANCHI, C. and P. TONI
The measurement of renal clearance of gama-emitting tracers by the use of external counting.
Experientia 20 (1964) 148
- 8) BOWERS, J.Z. and K.G. SCOTT
Distribution and excretion of electrolytes after whole-body irradiation injury.
I. Studies with radiopotassium.
Proc. Soc. Exp. Biol. 78 (1951) 645
- 9) BOWERS, J.Z. and K.G. SCOTT
Distribution and excretion of electrolytes after whole-body irradiation injury.
II. Studies with radiosodium.
Proc. Soc. Exp. Biol. 78 (1951) 648
- 10) BREUER, H., H.K. PARCHWITZ and C. WINKLER
Untersuchungen über den Kalium- und Natriumgehalt in verschiedenen Organen normaler und adrenaletomierter Ratten nach Ganzkörperbestrahlung.
Strahlentherapie 105 (1958) 579
- 11) BRIEN, T.G., R. O'HAGAN and F.P. MULDOWNNEY
Chromium-51-EDTA in the determination of glomerular filtration-rate.
Acta Radiolog. 8 (1969) 523
- 12) BUCHELT, L. und E. LÜHR
Stoffwechselveränderungen und Elektrolytverschiebungen am isolierten perfundierten Meerschweinchenherzen unter Bestrahlung und ihre Beeinflussung durch Oxyfedrin.
In: "Wirkungsweise von Oxyfedrin"
Hrsg. E. Gerlach und K. Moser, Schattauer Verlag
Stuttgart - New York 1972, S. 115 - 118

- 13) BRUCK, H. CH.
Der Kalium-, Natrium- und Magnesiumgehalt des plasmafreien Erythrocytensedimentes und des durchschnittlichen Einzel-Erythrocyten bei Bestimmung mit Hilfe eines Isotopenverdünnungsverfahrens.
Klin. Wschr. 48 (1970) 105
- 14) CHANTLER, C., E.S. GARNETT, V. PARSONS and N. VEALL
Glomerular filtration-rate measurement in man by the single injection method using ^{51}Cr -EDTA.
Clin. Science 37 (1969) 169
- 15) GARNETT, E.S., V. PARSONS and N. VEALL
Measurement of glomerular filtration-rate in man using a ^{51}Cr -editic-acid complex.
Lancet I (1967) 818
- 16) GLITSCH, H.G.
Über das Membranpotential des Meerschweinchenvorhofes nach Hypothermie.
Pflügers Arch. 307 (1969) 29
- 17) GOODFORD, P.J. and H. LÜLLMANN
The uptake of ethanesulfonate- ^{35}S ions by muscular tissue.
J. Physiol. (Lond) 161 (1962) 54
- 18) HAAS, H.G., F. HANTSCH, H.P. OTTER und G. SIEGEL
Untersuchungen zum Problem des aktiven Kalium- und Natriumtransports am Myocard.
Pflügers Arch. 294 (1967) 144
- 19) HAMPERL, H.
Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie.
28. Auflg. Springer Verlag Berlin - Heidelberg-New York (1968)

- 20) HEATH, D.A., M.S. KNAFF and W.H. WALKER
Comparison between inulin and ⁵¹Cr-labelled edetic-acid
for the measurement of glomerular filtration-rate.
Lancet II (1968) 1110
- 21) HOCHREIN, H., H. BRAUN, M. REINERT und B. KRIEGSMANN
Die Wirkung ionisierender Strahlen auf das Blutvolumen
und den Elektrolytstoffwechsel des Herz- und Skelett-
muskels der Ratte.
Strahlentherapie 120 (1963) 587
- 22) HOCHREIN, H., M. REINERT und B. KRIEGSMANN
Der Extrazellulärraum des Herz- und Skelettmuskels.
Z. ges. exp. Med. 139 (1965) 79
- 23) LAHRTZ, H.G., H. LÜLLMANN und P.A. VAN ZWIETEN
Calcium transport in isolated guinea-pig atria during
metabolic inhibition.
Biochem. biophys. Acta (Amst.) 135 (1967) 701
- 24) LÖHR, E. und L. BUCHELT
Untersuchungen des Electrolyt- und Nukleotidstoffwechsels
am bestrahlten isolierten Warmblüterherzen unter besonde-
rer Berücksichtigung herzwirksamer Substanzen.
Referat: Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft
für Biophysik und der Österreichischen Gesellschaft für
reine und angewandte Biophysik, Wien 1968
- 25) PAGE, E. and A.K. SOLOMON
Cat heart muscle in vitro.
I. Cell volumes and intracellular concentrations in
papillary muscle.
J. gen. Physiol. 44 (1960) 327

- 26) PIXBERG, H.U.
Bestimmung des Glomerulumfiltrates bei fallendem
Cr⁵¹-EDTA-Plasmaspiegel.
Strahlentherapie 136 (1968) 700
- 27) RAYNER, B. and M. WEATHERALL
Dioxin, ouabain and potassium movements in rabbit
auricles.
Brit. J. Pharmacol. 12 (1957) 371
- 28) RINK, H. und H.D. BERGEDER
Über den Einfluß strahleninduzierter Elektrolytver-
schiebungen auf den Stoffwechsel.
I. Untersuchungen am Enzym Koacetokinase in Hefe.
Strahlentherapie 135 (1968) 254
- 29) SHAPIRO, B. and G. KOLLMANN
The nature of the membrane injury in irradiated human
erythrocytes.
Rad. Res. 34 (1968) 355
- 30) STACY, B.D. and G.D. THORBURN
Chromium-51-ethylendiaminetetraacetate for stimulation
of glomerular filtration-rate.
Science 152 (1966) 1076
- 31) STAIB, I. und W. JUDT
Beitrag zur Elektrolytbestimmung im Gewebe. Modifikation
für das Flammenphotometer "Eppendorf".
Zschr. Prakt. Anästhesie u. Wiederbelebung 2 (1968) 379
- 32) TAYLOR, I.M., W.D. HUFFINES and D.T. YOUNG
Tissue water and electrolytes in an isolated perfused
rat's heart preparation.
J. appl. Physiol. 16 (1961) 95

- 33) TUTTLE, R.S., P.N. WITT and A. FARAH
The influence of ouabain on intracellular sodium and
potassium concentrations in the rabbit myocardium.
J. Pharmacol. exp. Ther. 133 (1961) 281
- 34) UTHGENANNT, H., L. HESSE und W. FÖRSTER
Die nuklearmedizinische Bestimmung der glomerulären
Filtrationsrate mit ⁵¹Cr-EDTA.
Fortschr. Röntgenstr. 109 (1965) 360
- 35) WILDE, W.S. and C.W. SHEPPARD
Electrolyte and water in muscles of rat forelimb
after intense local X-irradiation.
Proc. Soc. Exp. Biol. 88 (1955) 249

Lebenslauf

Am 24.2.1949 wurde ich als Sohn der Eheleute Hubert Müller und Antonie Müller geb. Heuel in Olpe/Westfalen geboren.

Von 1955 bis 1959 besuchte ich die "Volksschule am Imberg" in Olpe, danach bis zur Reifeprüfung 1967 das "Städtische Neusprachliche Gymnasium Olpe".

An den Universitäten Freiburg und Marburg studierte ich im Anschluß daran zwei Semester Chemie, danach in Marburg vom Wintersemester 1968/69 bis zum Sommersemester 1974 Medizin mit Zweiteinschreibung in Soziologie. Während meines klinischen Studiums war ich nebenberuflich fünf Semester lang als studentischer Tutor im Fach Physiologie tätig. In den Jahren 1972 und 1973 führte ich die experimentellen Arbeiten zu meiner Promotionsarbeit durch.

Am 8.8.1974 beendete ich mein medizinisches Staatsexamen und betätigte mich seit 1. September 1974 als Medizinalassistent.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren, Dozenten und Doctores:

in Freiburg:

Beck, Brauer, Hassenstein, Prade, Stärk.

in Marburg:

Amon, Berendes, Bock, Bommer, Boris, v. Bredow, Brück, Buchholz, Daume, Dimroth, Dölle, Engelhardt, Exner, Friederich, Ganz, Graul, Grundner, Hamelmann, Hamm, Hardewig, Hensel, Heß, Heuser, Hildebrandt, Hilgermann, Hort, Jakob, Karlson, Keil, Klaus, Klein, Koecke, Koransky, Korb, Linneweh, Mahr, Mann, Maroske, Martini, Nesswetha, Neurath, Nöth, Nultsch, Oepen, Petry, Pots, Reim, Rohen, Rosenbaum, Schaumlöffel, Schleyer, Schmid, Schmitz-Moormann, Seidel, Siegert, Straub, Strohmeyer, Uhlarik, Vakilzadeh, Walcher, Wendt, Wynniger.

